

## 低钾胁迫对不同效应型大豆光合特性及叶绿素荧光参数的影响

王伟, 李兴涛, 綦左莹, 曲婷婷, 曹敏建

(沈阳农业大学农学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘要:**以钾高效大豆品种九农15和低效品种GD8521为材料,在溶液培养条件下研究低钾胁迫对其叶绿素含量、光合特性及叶绿素荧光参数等生理指标的影响,从光合物质生产方面探讨不同效应型品种对低钾胁迫的耐性机制。结果表明:在低钾胁迫下,高效品种的叶绿素 $a$ 、 $b$ 及 $a+b$ 总含量与对照之间没有差异,但叶绿素 $a/b$ 值较对照显著提高,而低效品种的叶绿素 $a$ 及 $a+b$ 总量较对照显著降低,叶绿素 $b$ 的含量及 $a/b$ 值没有显著变化;低钾胁迫下高效品种仍保持较高的光合速率,但气孔导度和胞间 $\text{CO}_2$ 浓度则显著低于对照,低效品种的各参数下降幅度远大于高效品种,处理间均达到极显著差异;随着供钾水平的降低,高效品种叶绿素荧光各参数中仅 $F_v$ 显著增加,而低效品种 $F_0$ 、 $F_m$ 、 $F_v$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_0$ 等参数的变化均达到显著或极显著水平;低钾胁迫下低效品种反应中心耗散的能量较多,用于电子传递的能量减少,而高效品种处理间无明显变化。由此可见,在低钾胁迫下高效型品种仍能保持较高的叶绿素含量,尤其是叶绿素 $a$ 的比例显著提高,其光合电子传递过程受低钾胁迫的影响也较小,因而能保持较高的光合生产能力,而低效品种受低钾胁迫时各参数则发生显著变化,导致光合生产能力降低。

**关键词:**低钾胁迫;效应型;大豆;光合特性;叶绿素荧光参数

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2008)03-0451-05

## Effect of Low Potassium Stress on Photosynthetic and Chlorophyll Fluorescence Parameters of Two Soybean Varieties with Different K-efficiency

WANG Wei, LI Xing-tao, QI Zuo-ying, QU Ting-ting, CAO Min-jian

(Agronomy Department of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, Liaoning, China)

**Abstract:** In former thesis, difference of photosynthetic ability due to low K stress between two kinds of K-efficiency varieties had been reported in soybean, but the internal change and factors led to this difference hadn't been found. So in this experiment, we selected two soybean varieties with different K-efficiency as material, in order to study the effect of low potassium on chlorophyll (Chl) contents, photosynthesis characteristics and chlorophyll fluorescence parameters, so as to probing into tolerant mechanism of different K-efficient varieties on low potassium stress. The plants were grown in modified 1/2 Hoagland's solution with two different levels of K ( $K_{0.5}$  and  $K_{3.0}$ ). Results showed there was no difference in Chl contents ( $a$ ,  $b$  and  $a+b$ ) between low potassium stress and CK for K-efficient variety, but the ratio of Chl  $a/b$  increased significantly. For K-inefficient variety, the content of Chl  $a$  and ( $a+b$ ) greatly decreased in low potassium stress, and there were no change in content of Chl  $b$  and ratio of Chl  $a/b$ . Photosynthetic rate ( $P_n$ ) of K-efficient variety in low potassium level was similar to that of CK, but the  $\text{CO}_2$  concentration ( $C_i$ ) in the cell and stomatal conductance ( $G_s$ ) in low K level were much lower than that of CK. For K-inefficient variety, the decreases of  $P_n$ ,  $C_i$  and  $G_s$  were all significant. The differences of  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $F_v/F_m$  and  $F_v/F_0$  between two K levels weren't significant for K-efficient variety, while the changes of these parameters were significant difference for K-inefficient variety, including the change of  $F_v$ . Except for that, the ratio of energy dissipated by reaction center increased in low K stress for GD8521, and the ratio of transfer energy decreased at the same time, while those change of Jiunong 15 were tiny. So we can concluded that a relatively high content of Chl  $a$ ,  $b$  and ( $a+b$ ), especially the increase of Chl  $a$  content, resulted in a high ability of photosynthesis, the effective transfer of photosynthetic electron was another factor in maintaining the ability, while the significant changes of those parameters led to decrease of photosynthesis ability for K-inefficiency variety.

**Key words:** Low potassium stress; K-efficiency; Soybean; Photosynthesis; Chlorophyll fluorescence parameters

收稿日期:2008-01-13

作者简介:王伟(1979-),女,博士研究生,主要从事作物抗逆性生理机制研究。E-mail:wangweikitty@163.com。

通讯作者:曹敏建,教授,博士生导师。E-mail:caominjian@163.com。

钾是植物必需的营养元素之一,缺钾是限制作物生长发育、产量形成及品质高低的一个重要原因<sup>[1]</sup>,一般认为低钾胁迫降低产量的原因主要是由于其对叶片光合作用的影响<sup>[2]</sup>。现有资料表明,大豆不同品种对低钾胁迫的反应不同<sup>[3]</sup>。缺钾会降低光合生产能力,在植物不同钾效应型间有所差异<sup>[4]</sup>。低钾处理会显著降低水稻钾敏感型品种光合效率,耐性品种差异不大<sup>[5]</sup>。

叶片光合作用过程中,光系统Ⅱ(PSⅡ)起着至关重要的作用,光合速率的降低与光合电子传递有关。近年来,叶绿素荧光测定已经在植物抗逆生理研究中被广泛的应用<sup>[6]</sup>。叶绿素荧光的许多参数已被认为是衡量植物抗逆性的重要指标<sup>[7-8]</sup>。与“表观性”的气体交换指标相比,更具有反映“内在性”的特点<sup>[9]</sup>。因此,叶绿素荧光动力学技术被称为测定叶片光合功能快速、无损伤的探针,通过对各种荧光猝灭参数的分析,可以得到有关光能利用途径的信息<sup>[10]</sup>。

目前,关于大豆钾营养基因型形态特征及生理生化差异的研究较多,但关于低钾胁迫对其叶片荧光动力学参数的影响还未见报道。以2个不同钾效应型大豆品种为材料,研究低钾胁迫对叶片叶绿素含量及光合特性的影响,并进一步深入研究叶绿素荧光参数的变化情况,旨在从叶片对光能的捕获及光合电子传递方面对不同效应型大豆品种光合生产能力进行比较,为研究大豆耐低钾胁迫的生理机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

选用钾高效大豆品种九农15和低效品种GD8521。

### 1.2 试验设计

选取籽粒饱满、均匀一致的种子以1.2%次氯酸钠溶液消毒20 min,蒸馏水冲洗5遍,均匀的播在石英砂中,置于(25±2)℃培养箱中培养。待幼苗真叶长出后选取生长一致的植株移至1/2倍Hoagland营养液中培养,营养液起始pH为6.0,用0.1 mol·L<sup>-1</sup>的NaOH或0.1 mol·L<sup>-1</sup>HCl调节。液培容器为红色塑料小桶,桶外侧先用黑色油漆涂抹以遮光,再用白色油漆涂抹以降低桶身对热量的吸收。每桶装营养液3 L,用打孔的泡沫(厚度3.0 cm)和海绵固定幼苗,每盆3孔,每孔1株。每日用通气泵

定时通气(通15 min,停30 min)。

设低钾(K<sub>0.5</sub> 0.5 mmol·L<sup>-1</sup>)和对照(K<sub>3.0</sub> 3.0 mmol·L<sup>-1</sup>)两个水平,钾源用KNO<sub>3</sub>提供,低钾处理由NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>调整NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的差异。2个品种与2个钾浓度水平组成4个处理,每个处理3次重复。将培养装置置于网室内在自然条件下进行培养,每7 d更换1次营养液,培养21 d后进行测定。

### 1.3 测定方法

1.3.1 叶绿素含量的测定 取0.1 g左右叶片,用剪刀剪碎,浸泡在丙酮乙醇(V:V=1:1)溶液中于暗处提取24 h,浸泡液为待测液,丙酮乙醇(V:V=1:1)为空白液,分光光度计比色测定。

1.3.2 光合速率的测定 光合速率( $P_n$ )、胞间CO<sub>2</sub>浓度( $C_i$ )、气孔导度( $G_s$ )采用Li-6400便携式光合系统分析仪(LI-COR, USA)测定。

1.3.3 叶绿素荧光动力学参数的测定 采用连续激发式荧光仪Handy PEA(Hansatech, 英国)进行测定,暗处理时间为20 min。测得“JIP-test”所用的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的直接参数:

$F_0$ :固定荧光,也叫初始荧光,是PSⅡ反应中心处于完全开放时的荧光产量,与叶片叶绿素浓度有关。

$F_m$ :最大荧光,是PSⅡ反应中心处于完全关闭时的荧光产量。可以反映通过PSⅡ的电子传递情况。通常叶片经暗适应20 min后测得。

$F_v$ :可变荧光, $F_v = F_m - F_0$ 反映了PSⅡ原初电子受体Q<sub>A</sub>的还原情况。

$F_v/F_m$ :是PSⅡ最大光化学量子产量,反映PSⅡ反应中心内禀光能转换效率或称最大PSⅡ的光能转换效率,非胁迫条件下该参数的变化极小,不受物种和生长条件的影响。

$F_v/F_0$ :PSⅡ潜在活性。

ABS:单位反应中心吸收的光能。

TR<sub>0</sub>:单位反应中心捕获的用于还原的能量(在t=0时)。

DI<sub>0</sub>:单位反应中心耗散掉的能量(在t=0时)。

ET<sub>0</sub>:单位反应中心捕获的用于电子传递的能量(在t=0时)。

### 1.4 数据处理

试验数据采用DPS软件分析处理,进行t-测验,比较2个平均数之间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿素含量的差异

低钾胁迫对不同效应型大豆叶片叶绿素含量的影响差异较大。表 1 显示,在正常供钾水平下,两品种叶绿素含量相近,而在低钾胁迫下,两个品种叶片中叶绿素  $a$ 、 $b$  及  $a+b$  含量都低于对照,但高效品种九农 15 降低幅度明显小于低效品种 GD8521,各参数分别为高钾处理的 83.77%、77.55% 和 81.77%,处理间的差异未达到显著水平;而 GD8521 各参数

分别为高钾处理的 70.67%、70.83 和 70.71%,其中叶绿素  $a$  及  $(a+b)$  含量都显著低于对照 ( $p < 0.05$ )。对叶绿素  $a/b$  研究的结果表明,低钾胁迫下叶绿素  $a$  所占的比例较对照有所提高,高效品种增加幅度明显大于低效品种,处理间具有显著差异。叶绿素  $a$  被称为天线色素,在光合作用中起到捕获光能的作用,其比例的提高说明高效品种在胁迫条件下较低效品种更易捕获光能,这对于维持正常的光合速率是非常重要的。

表 1 两品种两种处理下叶绿素含量 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 差异

Table 1 Difference of chlorophyll contents in two K - levels for the varieties

测定项目 Items	九农 5 Jiunong 15		GD8521	
	$K_{0.5}$	$K_{3.0}$	$K_{0.5}$	$K_{3.0}$
Chl $a$	$1.29 \pm 0.31$	$1.54 \pm 0.24$	$1.06 \pm 0.10^*$	$1.50 \pm 0.15$
Chl $b$	$0.38 \pm 0.09$	$0.49 \pm 0.06$	$0.34 \pm 0.04$	$0.48 \pm 0.04$
Chl $(a+b)$	$1.66 \pm 0.41$	$2.03 \pm 0.30$	$1.40 \pm 0.13^*$	$1.98 \pm 0.18$
Chl $a/b$	$3.40 \pm 0.06^*$	$3.11 \pm 0.13$	$3.17 \pm 0.10$	$3.12 \pm 0.08$

\*, \*\* 分别表示处理间差异达到显著和极显著水平,下同。

\* and \*\* indicate significant and very significant differences between treatments, respectively. Same as followed.

### 2.2 光合效率、气孔导度及胞间 $\text{CO}_2$ 浓度的差异

低钾胁迫下两品种叶片净光合速率均有所降低,钾高效品种九农 15 的降低幅度明显小于低效品种 GD8521。 $K_{0.5}$  水平下 GD8521 的净光合速率仅为  $K_{3.0}$  的 65.28%,处理间差异达及显著水平 ( $p < 0.01$ )。气孔导度的变化趋势与光合速率相

近,但高效品种九农 15 低钾处理下较对照也有显著降低 ( $p < 0.05$ ),GD8521 处理间差异则达到极显著水平 ( $p < 0.01$ )。气孔是  $\text{CO}_2$  进入叶片胞内的途径, $K^+$  能调节其开闭,缺钾使气孔开张度减小, $\text{CO}_2$  进入受到限制,从而限制了酶活化和碳循环产物的积累。

表 2 两品种两种处理下光合作用各项指标差异

Table 2 Difference of in two K - levels for the varieties

测定项目 Items	九农 15 Jiunong 15		GD8521	
	$K_{0.5}$	$K_{3.0}$	$K_{0.5}$	$K_{3.0}$
光合速率 Photosynthetic rate/ $\text{mmolCO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$10.87 \pm 0.59$	$12.27 \pm 1.01$	$10.36 \pm 1.00^{**}$	$15.87 \pm 1.31$
气孔导度 Stomatal conductance/ $\text{mmolH}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$208.67 \pm 3.79^*$	$223.67 \pm 4.62$	$205.00 \pm 3.46^{**}$	$218.67 \pm 3.06$
胞间 $\text{CO}_2$ 浓度 Intercellular $\text{CO}_2$ concentration/ $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1} \text{CO}_2$	$161.33 \pm 8.96^*$	$234.67 \pm 36.23$	$168.00 \pm 22.61^{**}$	$308.00 \pm 29.51$

高效型品种和低效品种在低钾胁迫下胞间  $\text{CO}_2$  浓度的变化与气孔导度的变化相一致,其值分别为对照的 68.75% 和 54.55%,处理间分别达到显著 ( $p < 0.05$ ) 和及显著 ( $p < 0.01$ ) 差异。

### 2.3 叶绿体荧光动力学参数的差异

从表 3 中可以看出,低钾胁迫下 GD8521 叶绿素初始荧光  $F_0$  和最大荧光  $F_m$  较对照有显著提高,而九农 15 在处理间无显著差异,这说明低钾胁迫下低效型品种天线色素吸收的能量以荧光的形式耗散

比例增加,通过 PS II 的电子传递显著降低,这将在一定程度上影响反应中心对所吸收光能的转化;而高效型品种 JN15 的  $F_0$  和  $F_m$  无显著变化,说明其反应中心以荧光形式耗散的能量与高钾处理并无差异,通过 PS II 的电子传递也没有减少。

不同效应型品种在低钾胁迫下可变荧光  $F_v$  均发生显著变化,说明叶绿素俘获的光能转化为辐射能的比例有所增加,PS II 原初电子受体接受的电子减少,光能转化为化学能的比例受到影响。

荧光参数  $F_v/F_m$  是衡量植物抗逆性的一个重要指标。高钾处理下高效品种原初光能转换效率为 0.825, 低钾胁迫下为 0.812, 处理间未达到显著水平, 而低效品种对照条件下  $F_v/F_m$  为 0.828, 低钾胁迫下降至 0.778, 较高钾处理显著降低 ( $p < 0.05$ )。  $F_v/F_0$  与  $F_v/F_m$  值呈相同变化趋势, 表明低钾胁迫显著降低了低效品种 PS II 反应中心的潜在活性。

表 3 不同效应型品种在两种处理下荧光参数比较

Table 3 Comparison of chlorophyll fluorescence parameters in different K levels for two varieties

测定项目 Items	九农 15 Jiunong 15		GD8521	
	K <sub>0.5</sub>	K <sub>3.0</sub>	K <sub>0.5</sub>	K <sub>3.0</sub>
$F_0$	280.56 ± 28.50	275.67 ± 15.50	325.33 ± 24.24 *	267.33 ± 19.14
$F_m$	1496.67 ± 38.43	1577.00 ± 42.71	1404.67 ± 54.85 *	1556.33 ± 67.30
$F_v$	1216.00 ± 18.33 **	1301.33 ± 33.98	1093.30 ± 73.52 **	1289.00 ± 48.77
$F_v/F_m$	0.813	0.825	0.778 *	0.828
$F_v/F_0$	4.335	4.731	3.510 *	4.822
ABS	1.45 ± 0.32	1.49 ± 0.24	1.45 ± 0.32	1.55 ± 0.05
TR <sub>0</sub>	1.18 ± 0.26	1.23 ± 0.21	1.12 ± 0.27	1.29 ± 0.04
DI <sub>0</sub>	0.27 ± 0.06	0.26 ± 0.03	0.33 ± 0.05	0.27 ± 0.01
ET <sub>0</sub>	0.70 ± 0.08	0.73 ± 0.06	0.58 ± 0.09 *	0.81 ± 0.07

从 ABS、TR<sub>0</sub> 和 DI<sub>0</sub> 的变化情况更容易看出光能的分配情况。叶片单位反应中心吸收的光能一部分被还原, 另一部分则被耗散掉, 低钾胁迫下 GD8521 反应中心耗散掉的能量占其吸收光能的 22.76%, 对照处理下这一比例仅为 17.42%; 而九农 15 在低钾和对照条件下反应中心耗散的能量分别为吸收光能的 18.62% 和 17.45%。在用于还原的能量中, GD8521 低钾和对照处理下用于电子传递的能量分别为 51.79% 和 62.79%, 而九农 15 两处理下用于电子传递的能量分别为 59.32% 和 59.35%。

3 讨论

结果发现, 低钾胁迫下低效品种 GD8521 叶片光合效率、气孔导度和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度较对照均有显著降低。许大全<sup>[11]</sup> 研究认为当光合速率和气孔导度持续降低时, 根据胞间 CO<sub>2</sub> 浓度变化方向可判断光合速率降低是受气孔限制还是受非气孔限制, 即当光合速率、气孔导度和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度均呈下降趋势时光合速率降低可归结为受气孔限制, 而当光合速率和气孔导度持续下降, 其胞间 CO<sub>2</sub> 浓度却呈增加趋势时则归结为受非气孔限制。试验中三者变化趋势一致, 因此, 可以认为气孔限制是导致光合速率下降的一个原因。高效品种低钾胁迫下叶片的气孔导度和胞间 CO<sub>2</sub> 浓度降低幅度均达到显著水平, 但光合速率处理间没有差异, 说明气孔限制对其光合速率的影响较小, 高效品种可以通过其它因素的变化来调节低钾对光合作用造成的影响。

叶绿素作为光合色素, 参与光合作用中光能的

吸收、传递和转化, 在植物光合作用中起着关键性的作用。低钾胁迫对高效品种叶绿素 a、b 和 a + b 含量影响较小, 却严重降低了低效品种叶绿素 a 和 a + b 的含量, 叶绿素 a 的含量下降幅度远大于叶绿素 b, 可见叶片中叶绿素的下降主要是由于叶绿素 a 含量的下降引起的, 而叶绿素 a 被称为天线色素, 是吸收光能的主要色素, 其含量的降低势必影响到叶片对光能的捕获。大豆受铝毒胁迫时也发现叶绿素含量降低, 且叶绿素 a 的下降幅度大于叶绿素 b<sup>[12]</sup>。这种叶绿素含量的降低是由于叶绿素降解加强造成的, 还是由于合成叶绿素原初物质减少而导致的, 目前尚无具体试验结果。

低钾胁迫对不同效应型品种光合电子传递的影响也有差异。研究表明, 营养胁迫对植物荧光参数的影响是十分明显的, 缺 K<sup>+</sup> 胁迫下, 水稻叶片升高  $F_0$ 、 $F_v/F_m$  显著降低<sup>[2]</sup>。初始荧光  $F_0$  增加表明 PS II 反应中心出现可逆的失活或出现不易逆转的破坏, 也可能是植物叶片类囊体膜受到损伤, 而且  $F_0$  增加量越多, 类囊体膜受损程度就越严重。低效品种 GD8521 在低钾胁迫下  $F_0$  显著增加, 说明其 PS II 反应中心受到严重的破坏, 类囊体膜受损严重, 这是阻碍光合电子传递的一个重要因素。  $F_v$  反映 PS II 反应中心的活性,  $F_v$  愈强, PS II 活性愈高。  $F_v/F_0$  比值在一定条件下是更稳定的, 所以用此比值作指标比用  $F_v$  作指标更为可靠。  $F_v/F_0$  和  $F_v/F_m$  两种比值高表明其 PS II 潜在活性和原初光能转化效率这两种光合功能均较强。在低钾胁迫下 GD8521 的  $F_v$ 、 $F_m$ 、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_0$  各值较对照显著降低, 说明其 PS II